

7- La transmission des caractères génétiques et leurs modifications

Vivre = se reproduire

- strictement identique à soi-même: reproduction asexuée.
Concerne les procaryotes, eucaryotes unicellulaires et quelques pluricellulaires

- fortement identique à soi-même, au sein de l'espèce, mais en brassant les caractères génétiques de deux individus: reproduction sexuée

Vivre = croître (embryon)

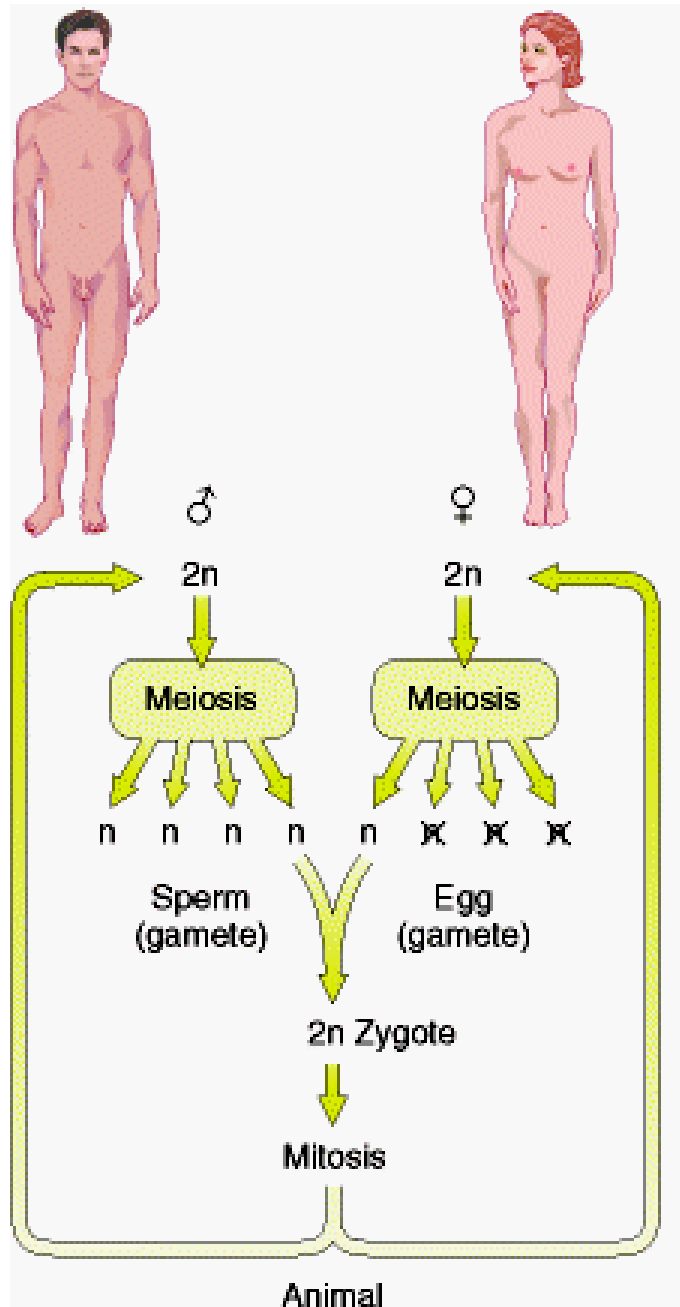
Multiplication des cellules à partir de la cellule œuf. Toutes les cellules ont le même génome

Transmission du génome nucléaire:

- De cellule mère en cellules filles: mitose
- De génération en génération: méiose, suivie de fécondation

Transmission des génomes mitochondriaux et chloroplastiques:

transmission maternelle



Cycle de vie des humains.

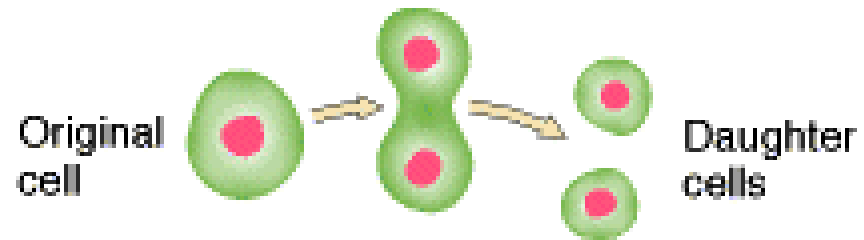
La méiose permet de générer des cellules reproductrices à n chromosomes à partir de cellules à $2n$ chromosomes. Notez que chez la femelle ce processus ne produit qu'une seule cellule sexuelle alors qu'elle en produit 4 chez le mâle.

Une cellule reproductrice mâle fusionne avec une cellule reproductrice femelle au moment de la fécondation pour donner naissance à une cellule œuf qui sera de nouveau $2n$.

Au cours du développement, la cellule œuf va se diviser de nombreuses fois pour donner des cellules à $2n$ par le processus de la mitose.

7-1 Transmission du génome nucléaire

7-1-1 Le cycle cellulaire (des eucaryotes)

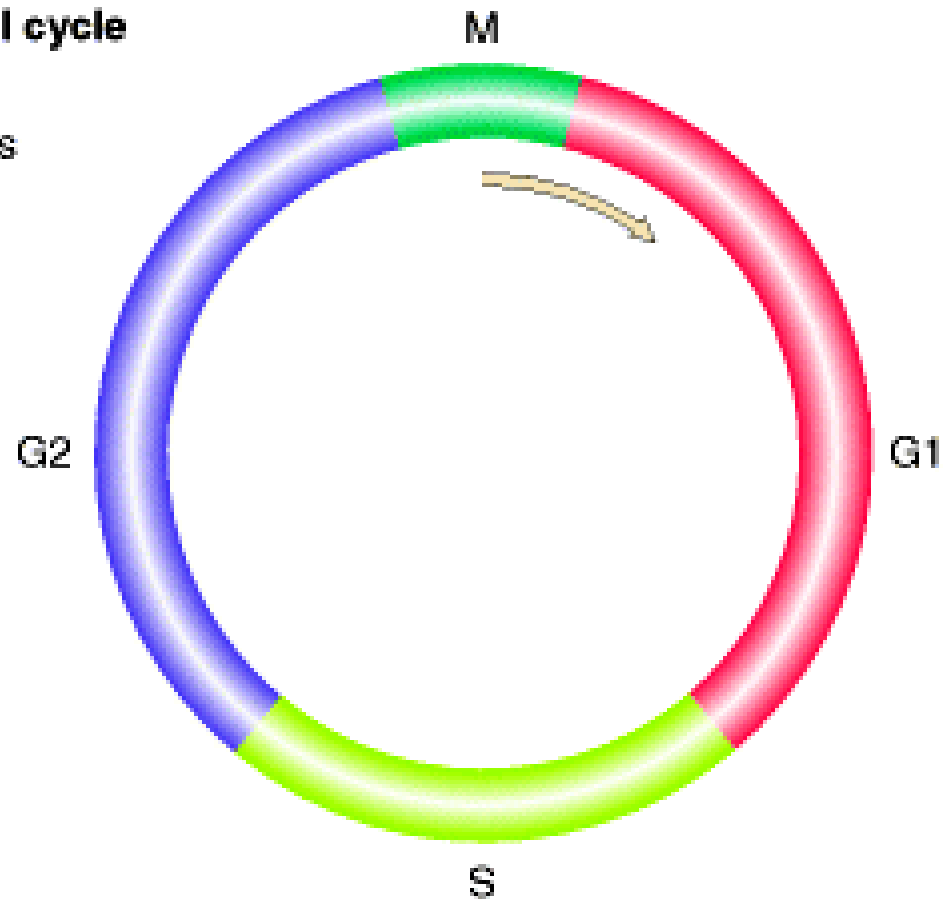


Stages of the cell cycle

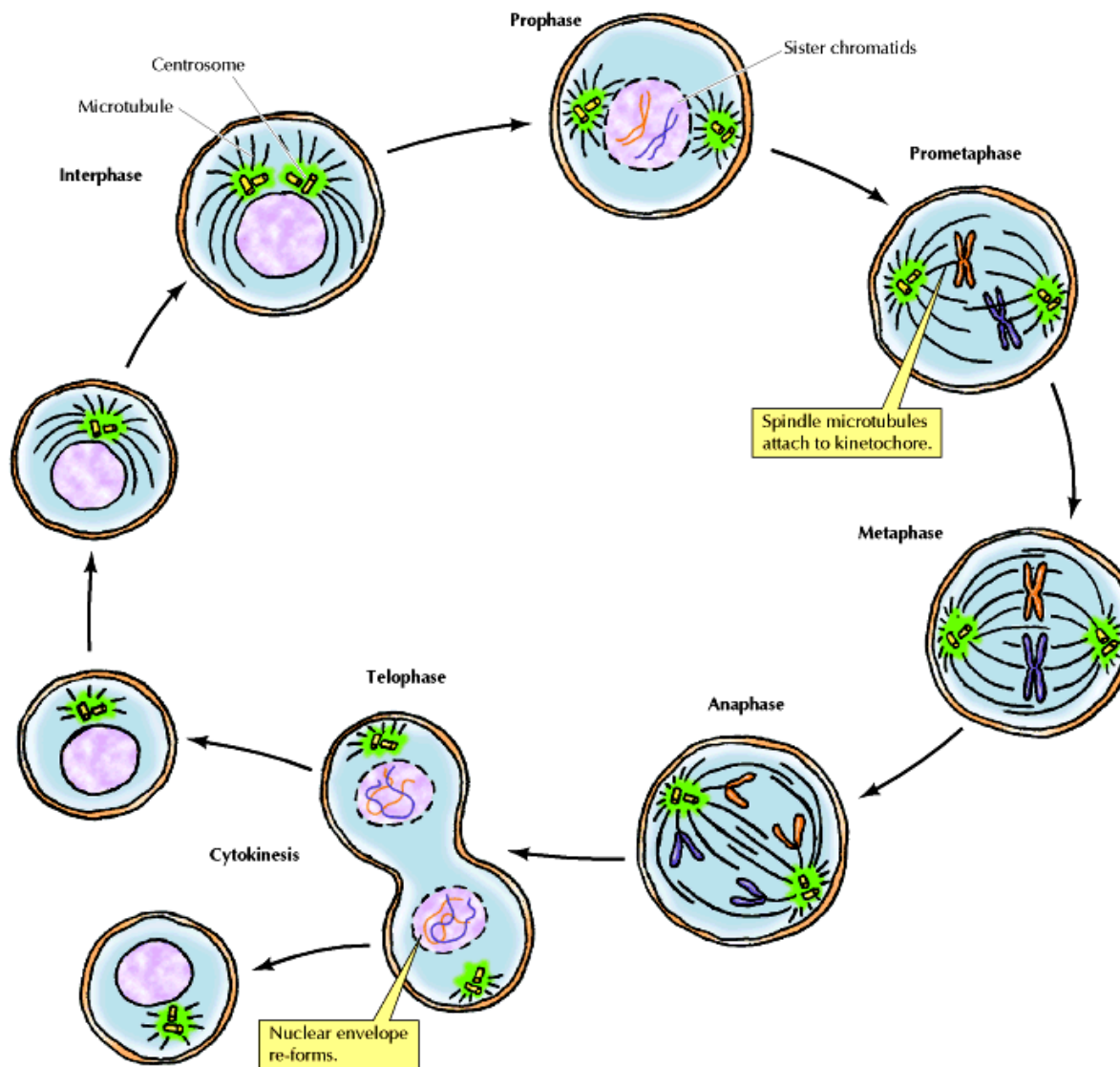
M = mitosis

S = DNA synthesis

G = gap



7-1-2 La mitose



Stades de la mitose dans une cellule animale.

-Pendant l'interphase, la réplication a eu lieu. En fin d'interphase, les centrosomes se dupliquent. Ils permettront la polymérisation d'un réseau de microtubules particuliers qui formeront le fuseau mitotique.

-Pendant la prophase, les chromosomes se condensent et les centrosomes migrent des deux côtés du noyau. La rupture de l'enveloppe nucléaire permet au fuseau de se former et aux chromosomes de s'y attacher via leurs centromères.

-Pendant la métaphase, les chromosomes s'alignent sur une plaque équatoriale.

-A l'anaphase, les chromatides sœurs se séparent et migrent chacun à un pôle de la cellule

-La mitose s'achève avec la formation de deux nouvelles enveloppes nucléaires et la décondensation des chromosomes.

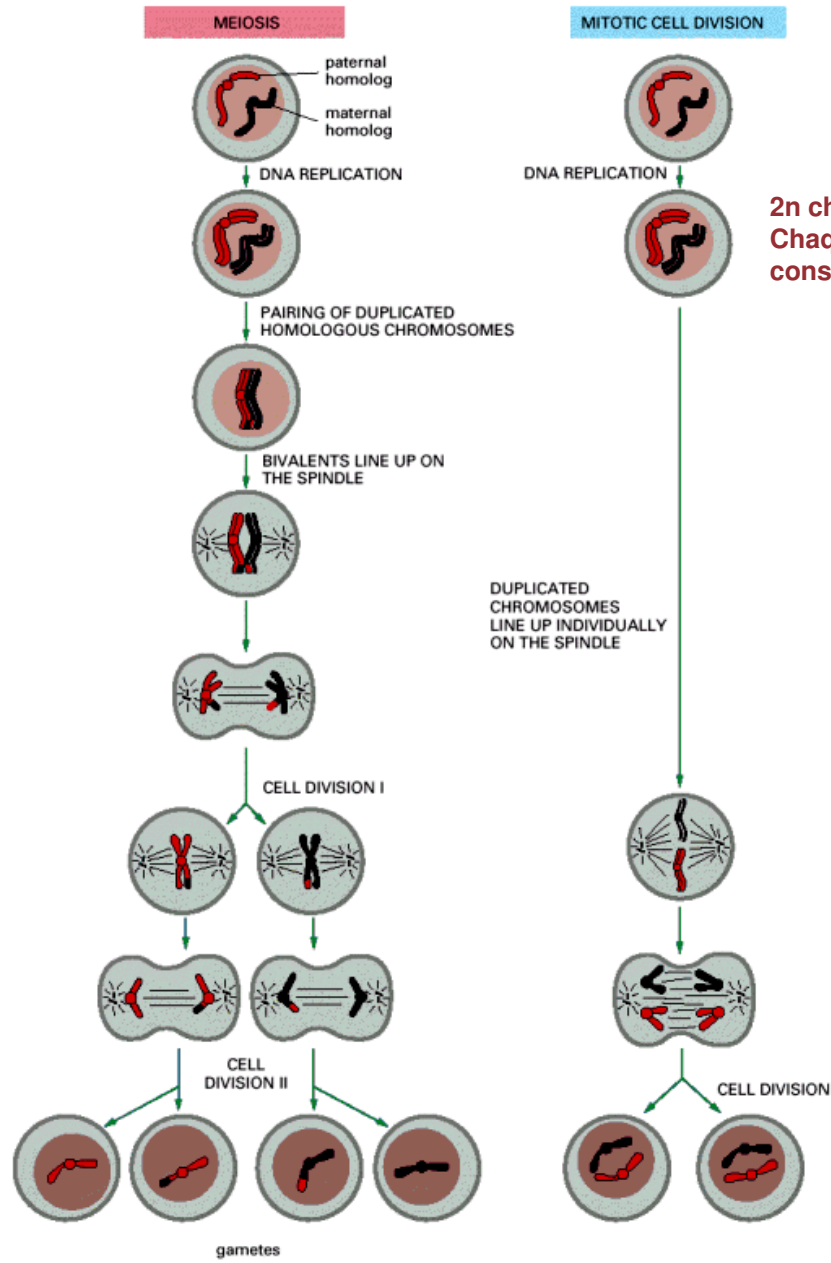
-Les deux cellules filles se séparent grâce à la formation d'un anneau contractile.

Les deux cellules filles ainsi formées ont le même génome que la cellule mère.

7-1-3 La méiose

MEIOTIC DIVISION I

MEIOTIC DIVISION II



n chromosomes
Chaque chromosome
constitué d'1 chromatide

2n chromosomes
Chaque chromosome
constitué de 2 chromatides

Comparaison de la méiose et de la mitose.

Pendant la mitose, chaque chromosome homologue se comporte indépendamment. La mitose conduit en fait à la séparation de chaque chromatide et à la distribution des 2 lots de chromatides aux deux cellules filles. Les deux cellules filles sont donc identiques.

Pendant la méiose, les chromosomes homologues s'apparient. Pendant cet appariement, ils échangent du matériel génétique (phénomène de la recombinaison homologue). Dans un premier temps, il y a séparation de chaque homologue et distribution aux deux cellules filles, sans séparation des chromatides. Les deux cellules filles héritent donc d'un seul homologue, paternel ou maternel au hasard. Il y a donc lors de cette étape brassage des deux génomes d'origine paternel et maternel. Dans un deuxième temps, chaque cellule fille subit une seconde division, similaire à la mitose, au cours de laquelle les chromatides seront séparés. Les 4 cellules filles sont donc toutes différentes.

2n chromosomes
Chaque chromosome
constitué d'1 chromatide

gametes

7-2 Transmission des génomes mitochondriaux

-Au cours de la mitose: répartition des mitochondries au hasard entre les deux cellules filles

-Au cours de la méiose

- Les spermatozoïdes formés sont dépourvus de mitochondries

- Seuls les ovocytes ont des mitochondries

Donc lors de la reproduction, le zygote n'hérite que des mitochondries d'origine maternelle

7-3 Les pathologies de l'ADN

-Mutations: modifications de l'ADN

- qui n'empêchent pas son fonctionnement
- qui changent l'information

-Dommmages à l'ADN: modifications qui bloquent la réplication et/ou la transcription

7-3-1 Les mutations

7-3-1-1 Définitions

Mutation: changement dans le génome (séquence) qui a un effet sur l'individu par rapport aux individus non mutés

Polymorphisme: changement dans le génome (séquence) qui est sans conséquence sur l'individu. Permet de distinguer les individus les uns des autres.

Génotype: séquence normale (wt) ou mutée

Phénotype: effet observable sur un ou plusieurs caractères

Locus: chaque gène ayant une position définie dans le génome, on utilise parfois le terme locus comme synonyme de gène

7-3-1-2 Principaux types de mutations

(a) Point mutations and small deletions

Wild-type sequences

Amino acid N-Phe Arg Trp Ile Ala Asn-C
 mRNA 5'-UUU CGA UGG AUA GCC AAU-3'
 DNA 3'-AAA GCT ACC TAT CGG TTA 5'
 5'-TTT CGA TGG ATA GCC AAT 3'

Missense

3'-AAT GCT ACC TAT CGG TTA-5'
 5'-TTA CGA TGG ATA GCC AAT-3'
 N-Leu Arg Trp Ile Ala Asn-C

Nonsense

3'-AAA GCT ATC TAT CGG TTA-5'
 5'-TTT CGA TAG ATA GCC AAT-3'
 N-Phe Arg Stop

Frameshift by addition

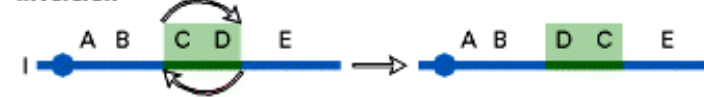
3'-AAA GCT ACC ATA TCG GTT A-5'
 5'-TTT CGA TGG TAT AGC CAA T-3'
 N-Phe Arg Trp Tyr Ser Gln

Frameshift by deletion

GCTA
 CGAT
 3'-AAA CCT ATC GGT TA-5'
 5'-TTT GGA TAG CCA AT-3'
 N-Phe Gly Stop

(b) Chromosomal abnormalities

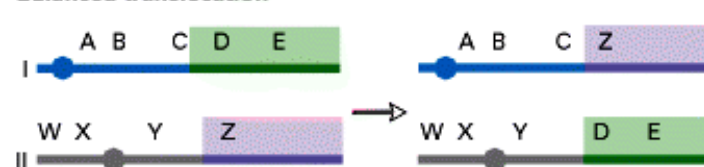
Inversion



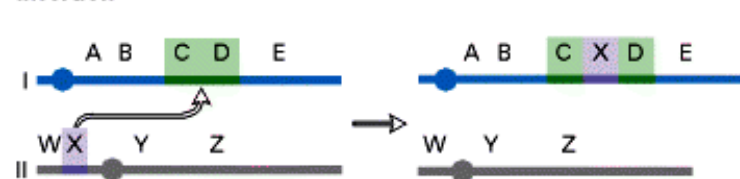
Deletion



Balanced translocation



Insertion



Différents types de mutations:

-Mutations ponctuelles, qui ne touchent qu'une seule paire de bases.

.Mutation silencieuse: touche la 3^{ème} base d'un codon, sans changer son sens (code dégénéré)

.Mutation faux sens qui change la signification du codon

.Mutation non sens qui transforme un codon codant en codon stop ce qui génère une protéine tronquée

-Addition ou délétion d'une ou quelques bases qui crée un décalage de phase de lecture qui peut résulter en une protéine de séquence ou de longueur totalement différentes.

-Aberrations chromosomiques qui résultent de modifications concernant de longs fragments d'ADN. Ces modifications arrivent souvent suite à des cassures double brin qui sont mal réparées

.une inversion peut survenir suite à deux cassures double-brin réparées en inversant le fragment cassé

.une délétion survient suite à deux cassures double brin et la perte du fragment

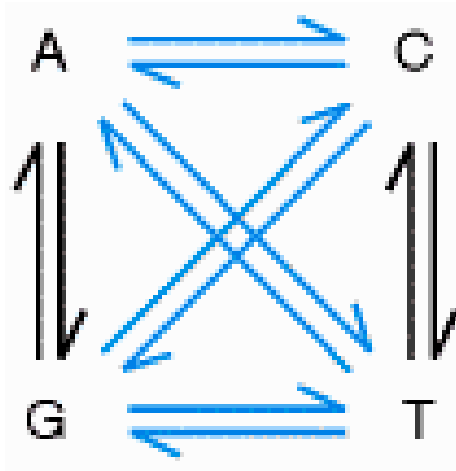
.une translocation survient lorsqu'une extrémité chromosomique est cassée et raboutée à un autre chromosome (très fréquent dans les cancers hématopoïétiques)

.une insertion peut résulter de la génération d'un fragment libre suite à deux cassures qui va être réinséré au site d'une autre cassure ailleurs dans le chromosome ou sur un autre chromosome.

Deux types de mutations ponctuelles:

- **Transitions**: changement de purine vers purine ou pyrimidine vers pyrimidine.

- **Transversions** changement de purine vers pyrimidine ou pyrimidine vers purine.



Noir: transitions

Bleu: transversions

7-3-1-3 Types de séquences touchées par les mutations

Toutes les séquences sont mutables.

Une mutation peut avoir un phénotype si elle touche:

- une séquence codante**
- une séquence régulatrice (promoteur, enhancer...)**
- une séquence d'épissage, ou de polyadénylation**

7-3-1-4 Origine des mutations

Mutation s'établit:

-Spontanément

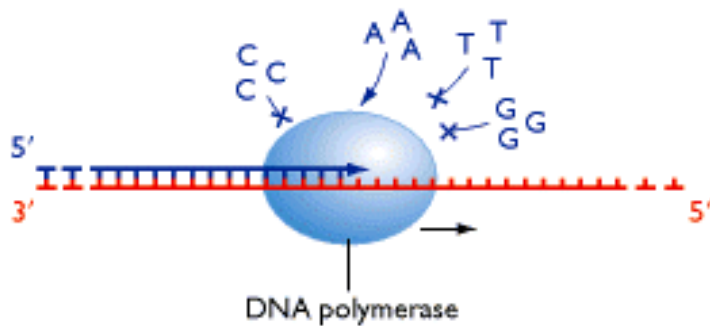
- suite à des erreurs de réplication (mésappariements)
- suite à des changements chimiques spontanés des bases qui favorisent les mésappariements
- à cause d'incorporation de tautomères qui favorisent les mésappariements

-Sous l'effet d'agents mutagènes (rayonnements ionisants, rayonnements UV, oxydants, produits chimiques).

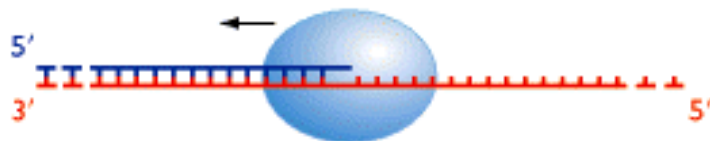
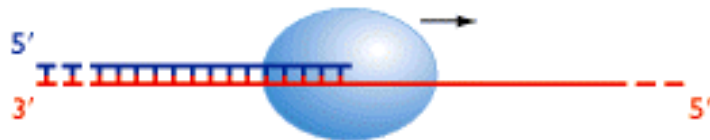
En fonction de la dose, ils créent du dommage à l'ADN qui bloque réplication/transcription et ou ils:

- modifient la chimie des bases et favorisent les mésappariements
- se comportent comme des analogues de bases avec une chimie qui favorise les mésappariements
- induisent des cassures simple- ou double-brin
- modifient la structure de la double hélice et favorisent les insertions

(A) Nucleotide selection



(B) 'Proofreading'

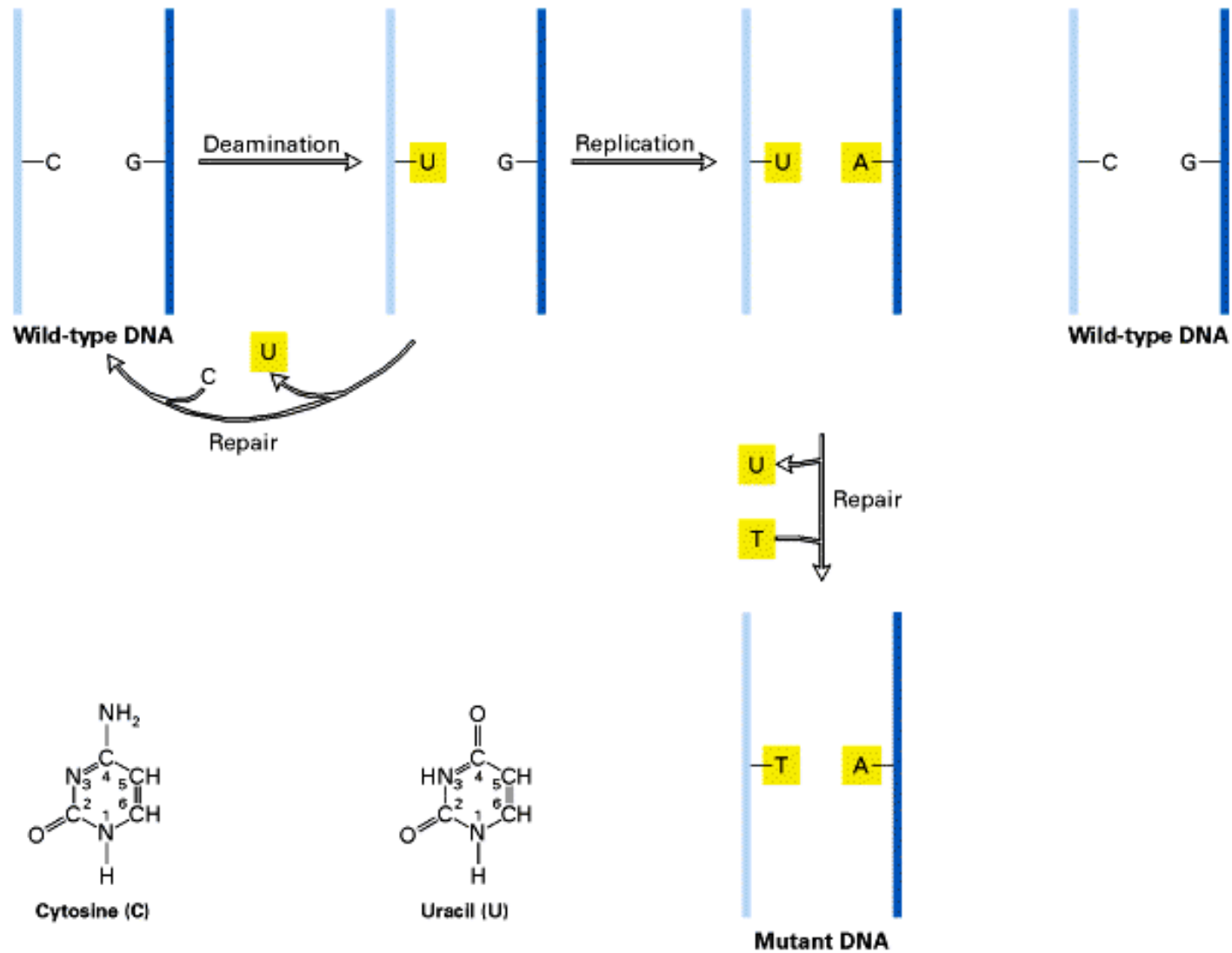


Mécanismes assurant la fidélité de la réplication.

On estime que si la polymérisation se faisait de façon totalement chimique, il y aurait 5 à 10% de mésappariements. Mais:

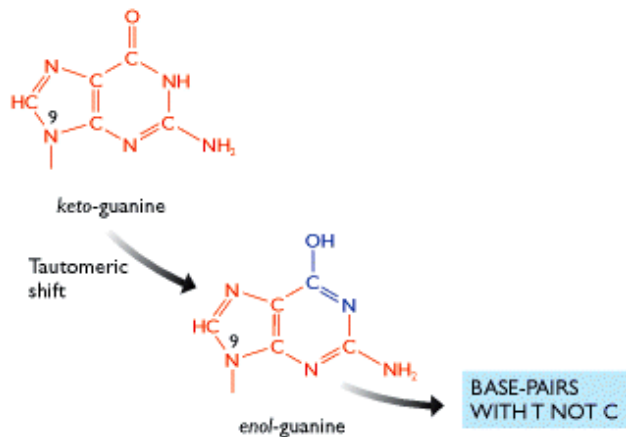
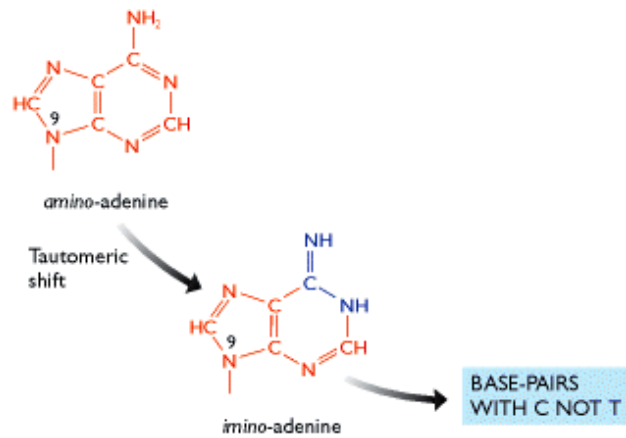
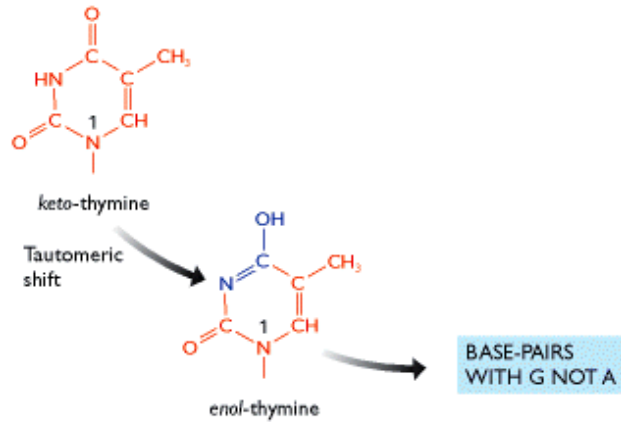
- (A) La DNA polymérase est capable de sélectionner le bon nucléotide à chaque position.
- (B) La DNA polymérase a une activité exonucléase en plus de son activité polymérase, c'est-à-dire qu'elle est capable de couper la liaison du dernier nucléotide qu'elle vient de polymériser. Ces deux activités sont en constante compétition, mais l'activité exonucléase est défavorisée lorsque le nucléotide est apparié, ce qui stabilise alors son positionnement. Si le nucléotide n'est pas apparié, parce que ce n'est pas le bon, il a toutes les chances d'être enlevé par l'activité exonucléase.

Ces deux mécanismes réduisent le taux de mutation à 1 pour 10^7 chez *E. coli* et à 1 pour 10^9 à 10^{11} chez l'homme.



Formation d'une mutation ponctuelle spontanée suite à la désamination d'une cytosine.

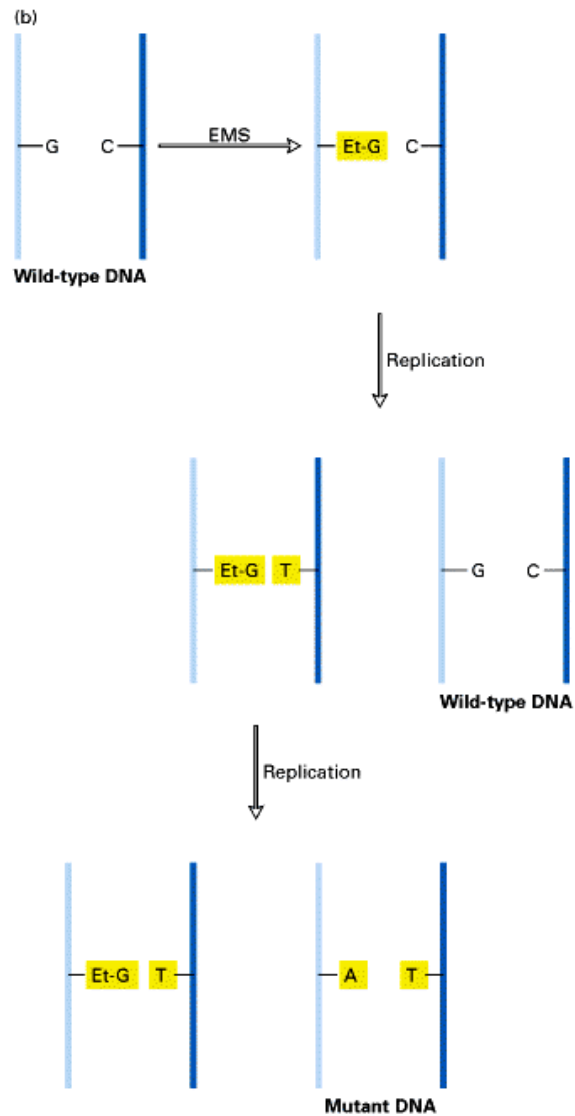
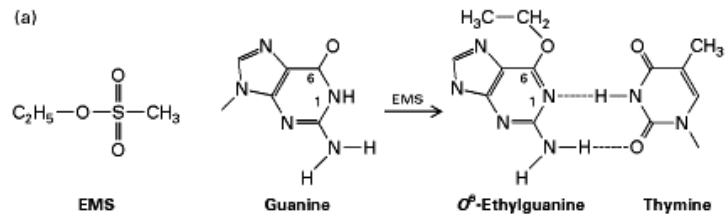
Une cytosine désaminée correspond à un uracile, qui est confondu par la DNA polymérase avec un T. Il en résulte au final un mutant avec une paire T·A à la place d'une paire C·G.



Conséquences du tautomérisme sur l'appariement des bases.

Les bases existent sous forme de tautomères, c'est-à-dire d'analogues structuraux qui sont en équilibre dynamique. Par exemple, la thymine existe sous forme de deux tautomères, la forme keto et la forme enol, la forme keto étant la plus stable donc la plus incorporée dans l'ADN. Cependant, chaque fois que la forme enol est incorporée, cela crée une erreur car cette forme s'apparie avec G plutôt qu'avec A.

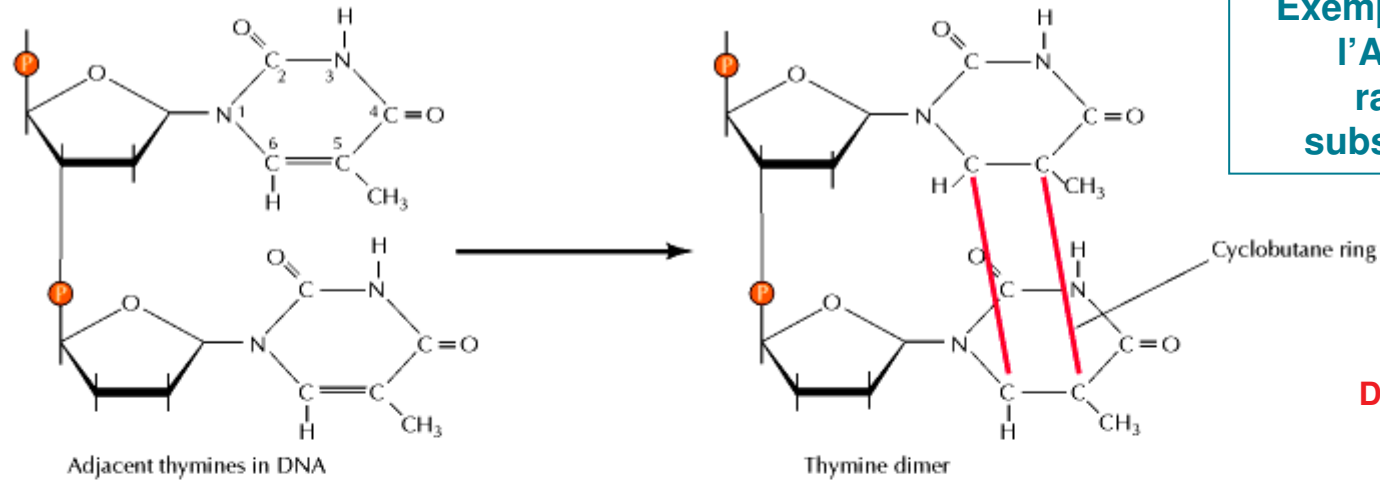
Remarque: la cytosine existe aussi sous forme amino et imino, mais les deux tautomères s'apparient avec G.



Induction d'une mutation ponctuelle par l'éthylméthane sulfonate (EMS), un mutagène courant.

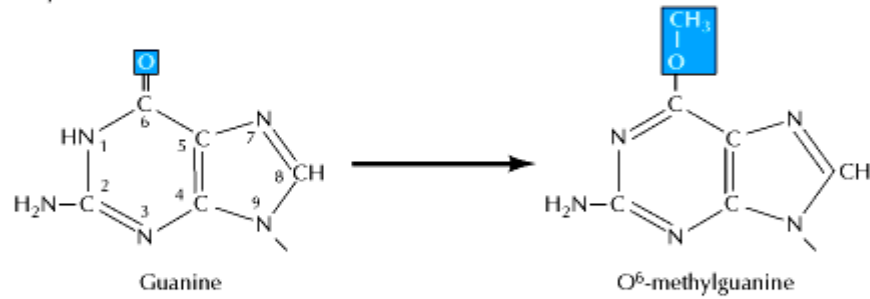
- (a) L'EMS alkyle les guanines sur l'oxygène en position 6 de l'anneau purine, ce qui forme du O^6 -éthylguanine (Et-G), qui s'apparie avec T au lieu de C.
- (b) Deux tours de réplication d'un ADN contenant du Et-G génère une mutation dans laquelle une paire G·C est remplacée par une paire A·T.

(A) Exposure to UV light



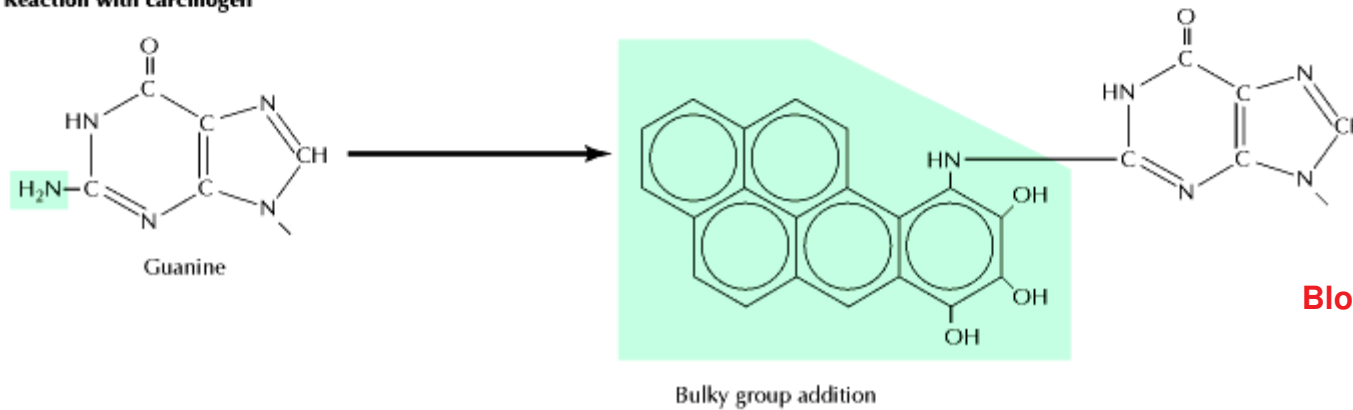
Déstructure la double hélice

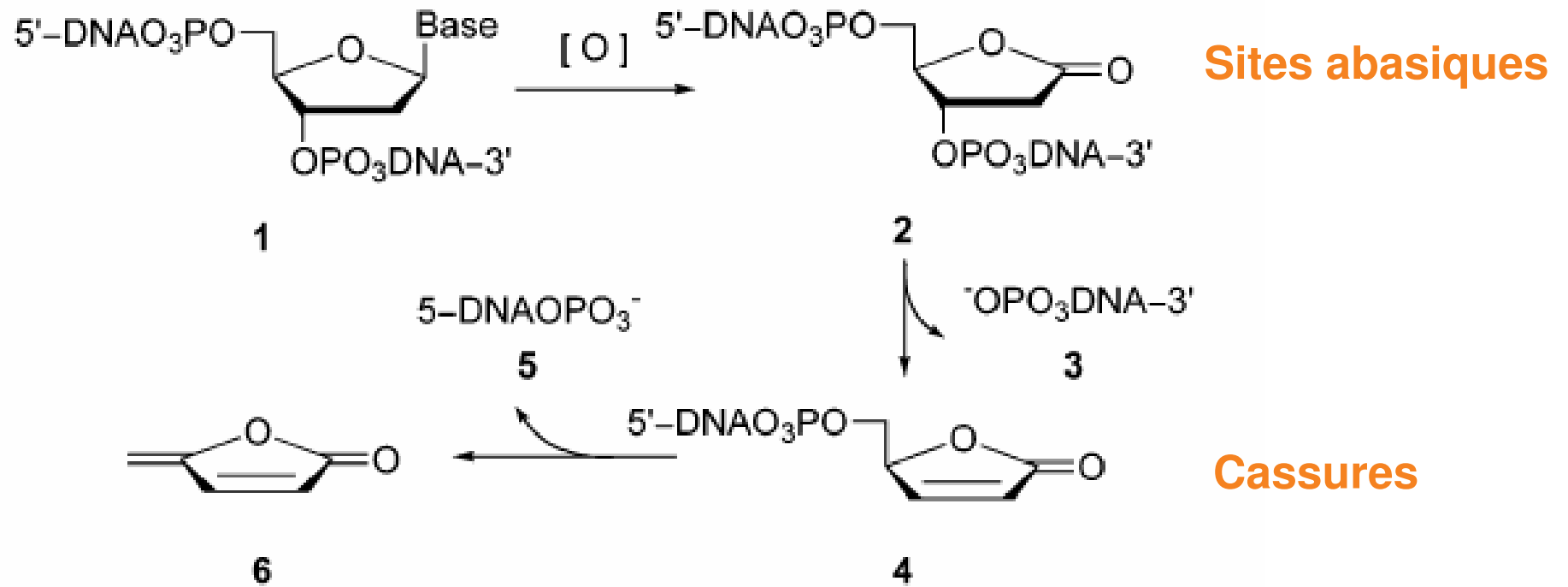
(B) Alkylation



Modifie l'organisation chromatinienne

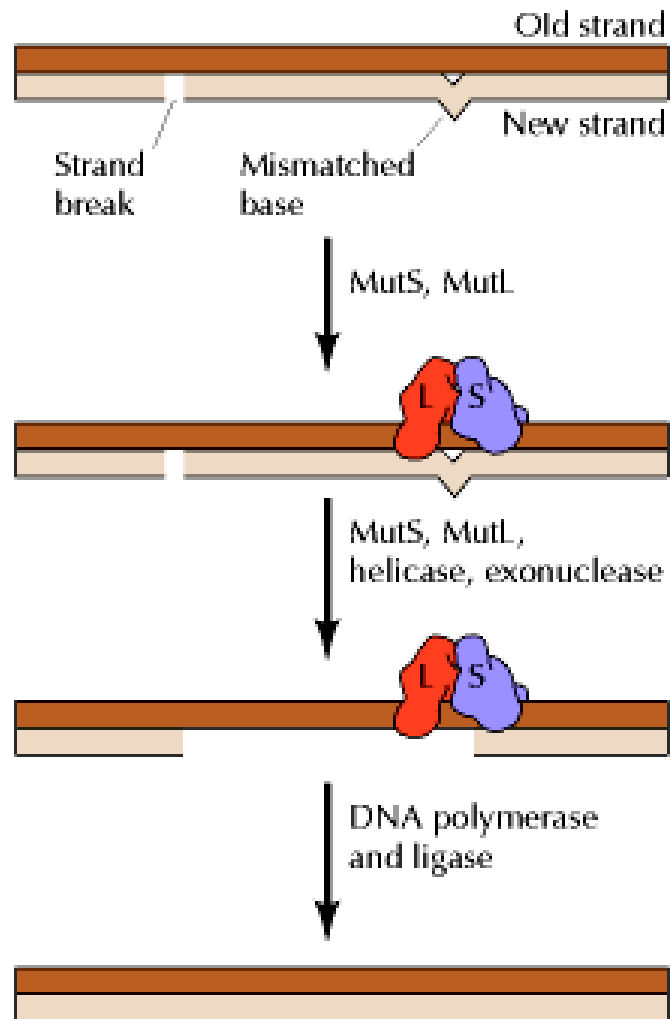
(C) Reaction with carcinogen



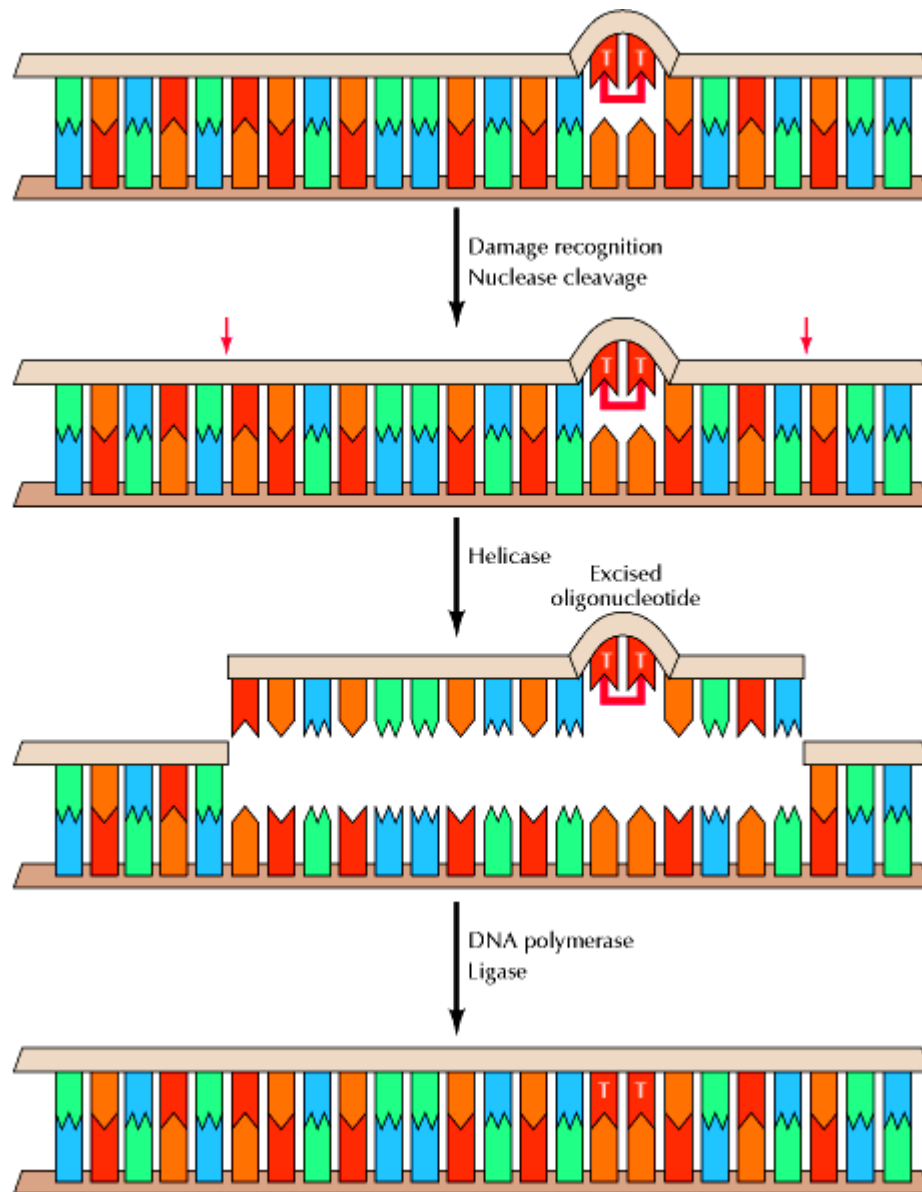


Cassure par oxydation des sucres du squelette sucre-phosphate

7-3-1-5 Mécanismes de réparation

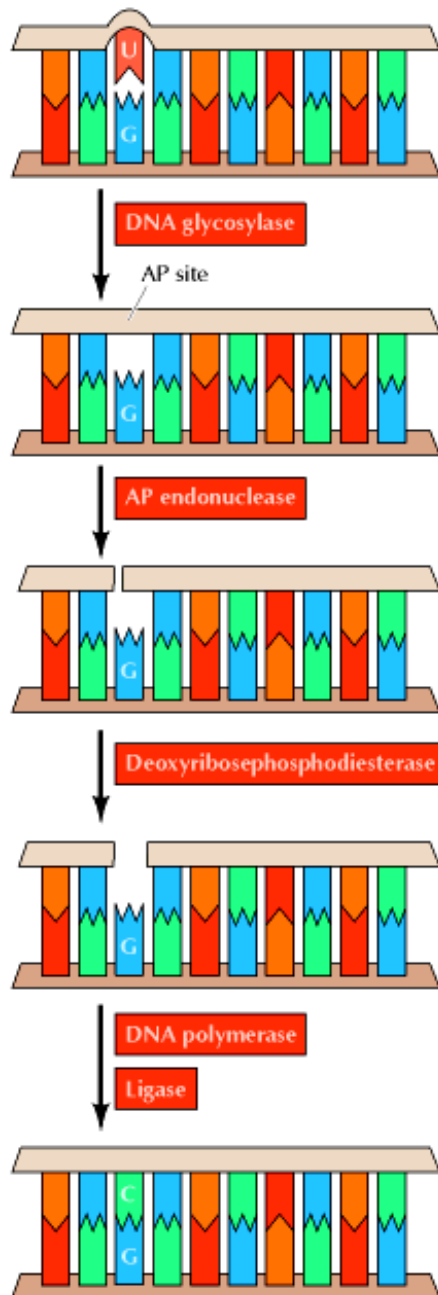


Réparation des mésappariements dans les cellules de mammifères. Cette réparation a lieu très précocement après la réplication. Les protéines MutS et MutL repèrent le mésappariement et le répare grâce à l'intervention d'une hélicase, d'une exonucléase, de la DNA polymérase et d'une ligase. La réparation est ciblée vers le bras néoformé et non pas vers le brin parental car elle utilise des cassures simple-brin qui sont plus fréquentes dans le brin néoformé que dans le brin parental.



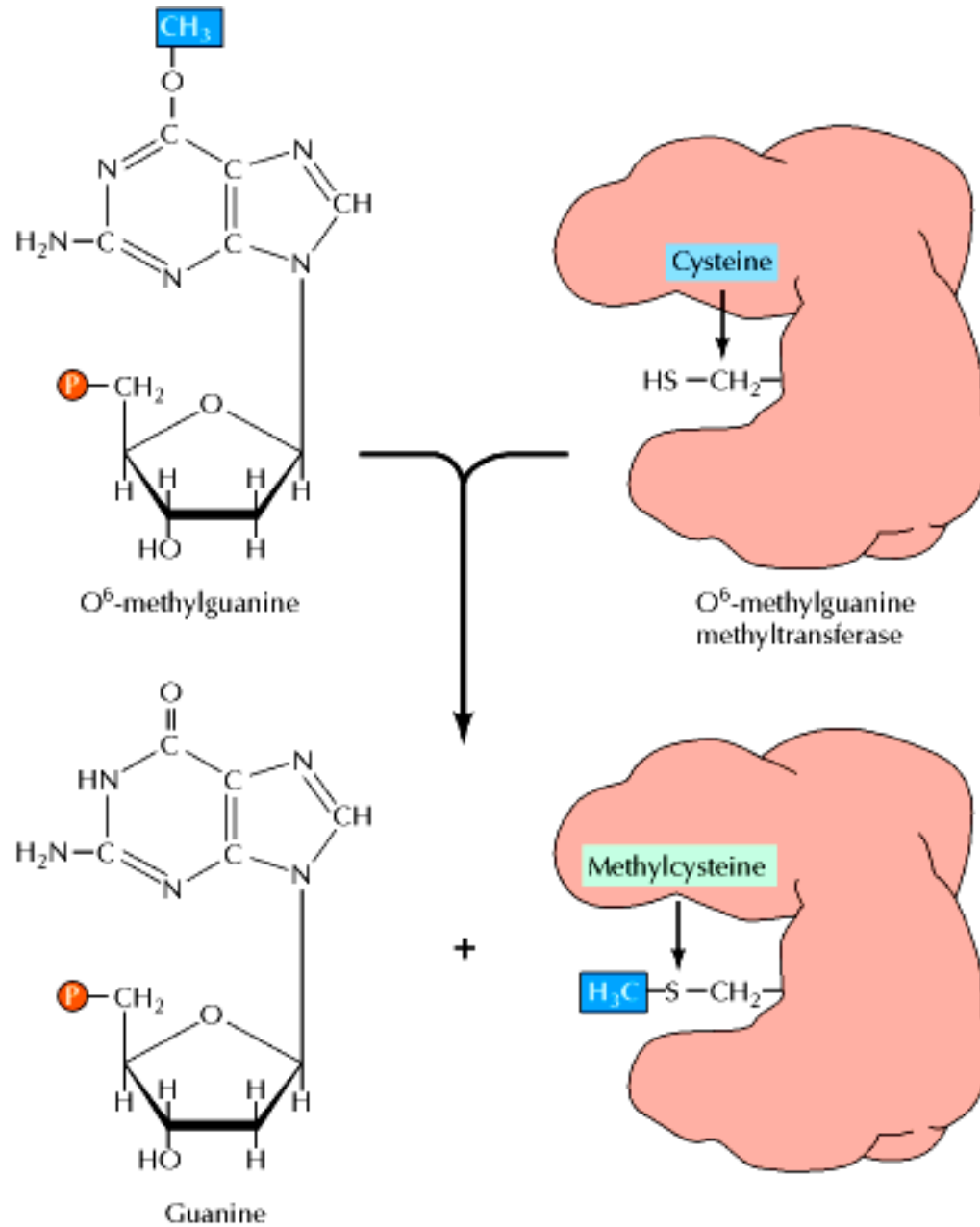
Réparation des dimères de thymine par le mécanisme d'oligonucléotide-excision.
 Le dommage à l'ADN est repéré. L'ADN est ensuite clivé de part et d'autre du dommage. Une hélicase permet ensuite de désapparier le fragment d'ADN clivé. Une polymérase intervient ensuite pour resynthétiser un brin complémentaire.

DNA containing U formed by deamination of C

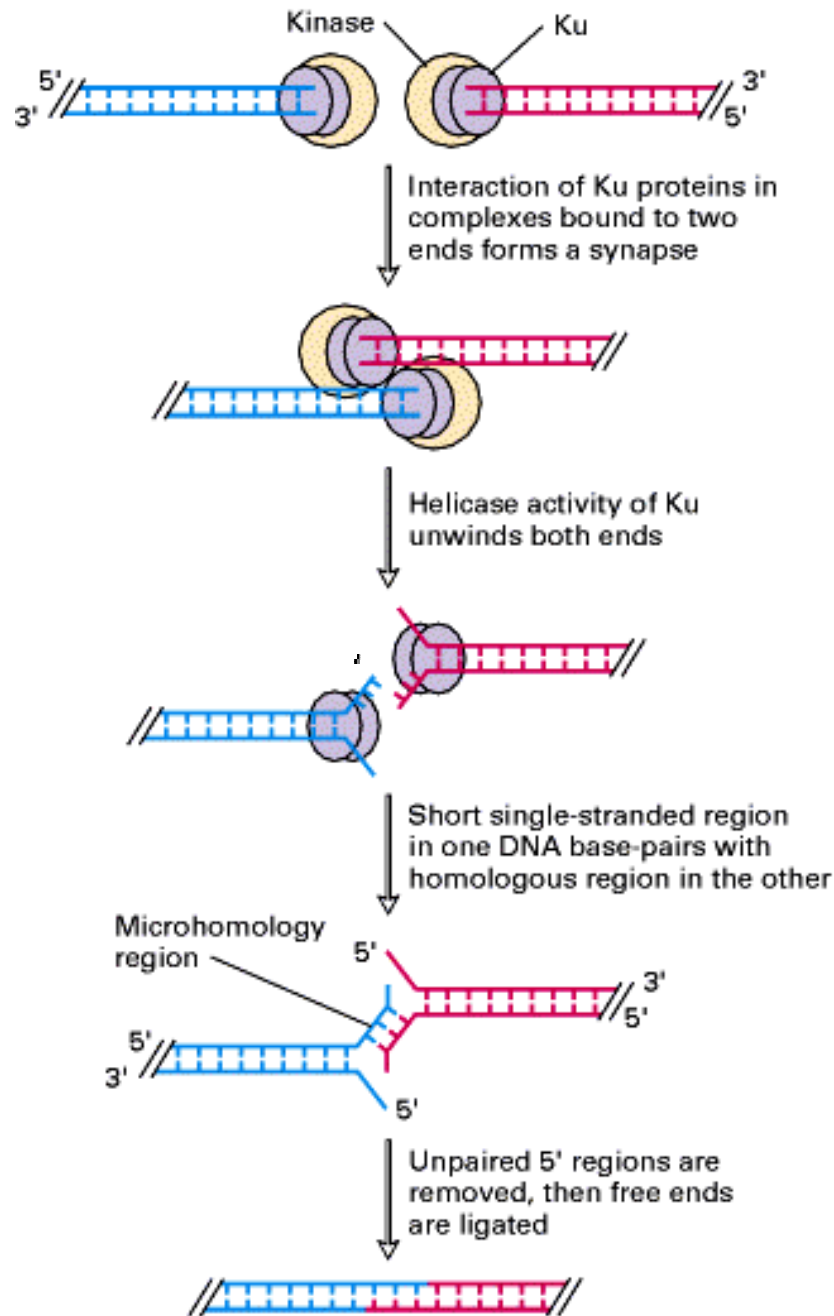


Réparation par le mécanisme de base-excision.

Dans cet exemple, un uracil (U) a été formé par désamination d'une cytosine (C) et se trouve donc en face d'une guanine (G). La liaison covalente entre l'uracil et le désoxyribose est clivée par une DNA glycosylase, ce qui génère ce que l'on appelle un site abasique (AP site). Ce site est reconnu par une AP endonucléase qui clive la liaison sucre-phosphate. L'intervention d'une déoxyribosephosphodiesterase permet l'élimination complète du sucre. Le trou résultant est comblé par une DNA polymérase et une ligase, qui permettent l'incorporation de la base correcte.



Réparation des O⁶-méthylguanines.
 Il existe une O⁶-méthylguanine
 méthyltransférase capable de transférer le
 groupe méthyle d'une O⁶-méthylguanine
 sur une cystéine du site actif de l'enzyme.



Réparation des cassures double-brin par raboutage non-homologue (non homologous end-joinction).

Un complexe de deux protéines, Ku et une protéine kinase dépendante de l'ADN, se fixe sur les cassures double-brin puis interagissent entre-elles de façon à rapprocher les deux extrémités. Ku déroule la double hélice sur les extrémités jusqu'à révéler par hasard deux petites séquences homologues. Les fragments d'ADN non appariés sont éliminés par un mécanisme non encore élucidé puis les deux extrémités d'ADN sont liguées. Au finale, la cassure est réparée, mais plusieurs bases ont été perdues au site de réparation.

Ce mécanisme permet de rabouter des fragments d'un même chromosome ou de différents chromosomes, ce qui génère des translocations.

7-3-1-6 Effet des mutations: mutations récessives et mutations dominantes

- Organismes diploïdes: chaque gène est présent en 2 exemplaires (2 allèles)

La mutation ne touche qu'un allèle, donc

. L'effet peut-être masqué par l'allèle sauvage qui continue à remplir la fonction normale: **mutation récessive**

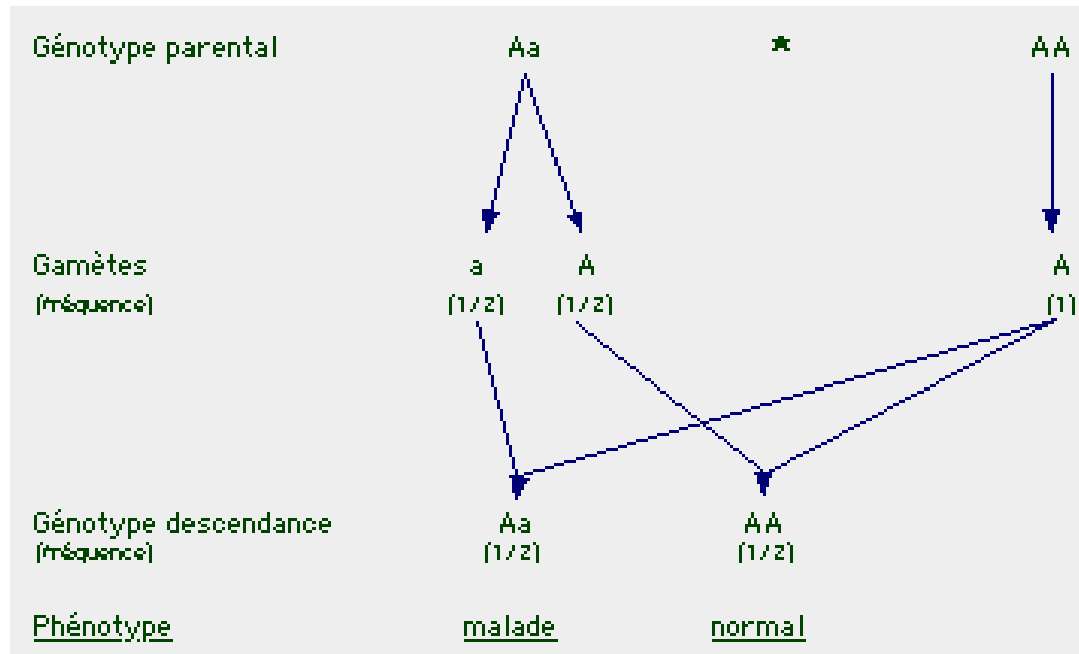
. L'effet peut se manifester malgré l'allèle sauvage: **mutation dominante**

La mutation récessive ne produit un phénotype que chez les individus homozygotes (les 2 allèles sont mutés, obtenus si 2 individus hétérozygotes mutés se reproduisent entre eux)

-Organismes haploïdes: toutes les mutations peuvent produire un phénotype.
Ex: levure, modèle qui permet d'obtenir facilement des mutations et d'étudier leur effet

A: allèle sauvage
a: allèle muté

Hyp:
Mutation dominante



--> Gamètes (fréquence)	a (1/2)	A (1/2)	
A (1)	Aa (1/2)	AA (1/2)	<-- Génotype descendance (fréquence)
	(a) <u>malade</u>	(A) <u>normal</u>	<-- <u>Phénotype</u> descendance

Hérédité monogénique mendélienne autosomique dominante

A: allèle sauvage
a: allèle muté

Hyp:
Mutation récessive

Génotype parental: Aa * Aa

--> Gamètes (fréquence)

	A (1/2)	a (1/2)	
A (1/2)	AA (1/4)	Aa (1/4)	← Génotype descendance (fréquence)
a (1/2)	Aa (1/4)	aa (1/4)	

Phénotype normal (A) Phénotype malade (a)

Hérédité monogénique mendélienne autosomique récessive

7-3-1-7 Effet des mutations: mutations perte de fonction, mutations gain de fonction

-Mutation perte de fonction:

- Le gène ne s'exprime plus
- Le gène s'exprime, mais la protéine mutée ne peut plus effectuer sa fonction

Généralement, les mutations perte de fonction sont récessives.

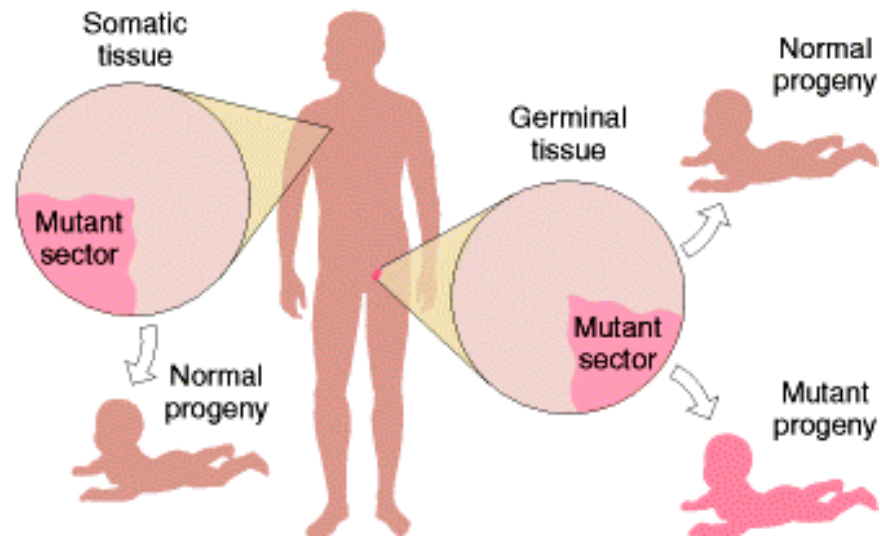
Cependant, la quantité de protéine nécessaire à la bonne fonction de la protéine peut nécessiter l'expression des 2 allèles. Dans ce cas, une mutation perte de fonction peut-être dominante (haplo-insuffisance)

-Mutation gain de fonction:

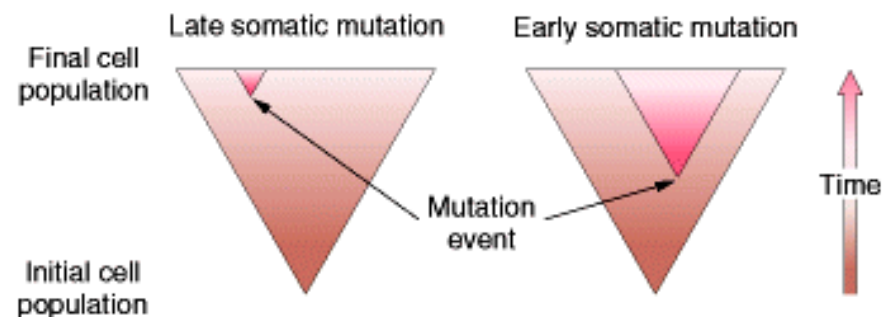
- Le gène s'exprime plus fortement
- La protéine mutée peut avoir
 - . une fonction plus intense
 - . une fonction qui devient constitutive, alors qu'elle était inductible
 - . une nouvelle fonction

Les mutations gain de fonction peuvent être dominantes, ou co-dominantes

7-3-1-8 Effet des mutations: mutations germinales, mutations somatiques



Les mutations germinales touchent les cellules qui donneront naissance aux gamètes. Elles peuvent donc être transmises à la descendance. Les mutations somatiques touchent n'importe quel autre tissu; elles ne sont pas transmises à la descendance.

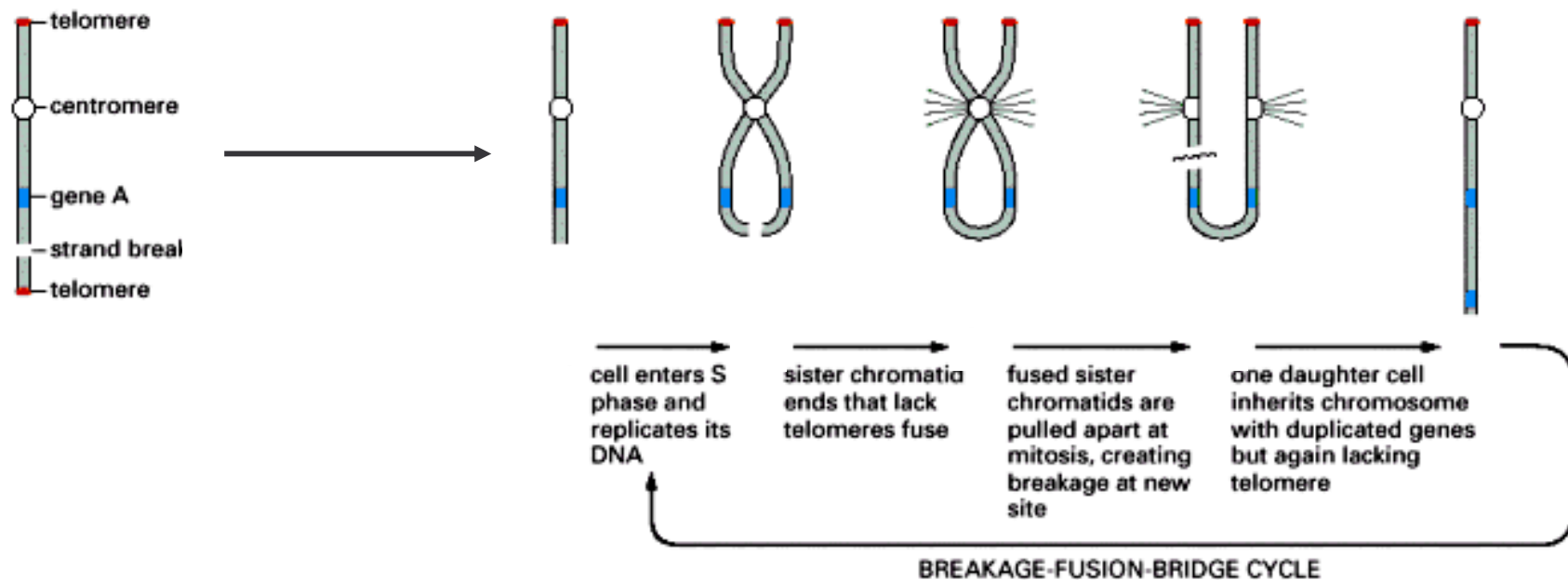


Les mutations somatiques ont des conséquences différentes en fonction du tissu touché et du moment de la vie où a lieu la mutation. Plus la mutation a lieu tôt dans la vie (développement embryonnaire), plus les conséquences risquent d'être importantes car le nombre de cellules mutées sera plus important.

7-3-2 L'instabilité génomique

Certaines mutations ou modifications dans le génome affectent la stabilité de l'entièreté du génome:

- Mutation des gènes impliqués dans les voies de réparation des mutations
- Cassures double brin



Conséquences d'une cassure double brin sur la stabilité génomique. Lorsqu'il y a une cassure double brin dans un chromosome, lors du cycle cellulaire suivant, après réplication de l'ADN en phase S, une cellule fille possédera un chromosome à deux chromatides cassés. Il peut y avoir dans ce cas une réparation inappropriée qui va rabouter les deux chromatides. Lors de la mitose, au moment de la séparation des chromatides et leur migration à chaque pôle de la cellule, il y aura cassure aléatoire des chromatides écartelés entre les deux pôles de la cellule en division. Une cellule fille pourra hériter ainsi d'une chromatide non seulement cassée mais en plus avec une perte de matériel génétique. L'autre cellule fille héritera également d'une chromatide cassée et de matériel génétique en plus. Ces deux cellules filles à chromatides cassés pourront au cycle suivant à nouveau réparer leurs chromosomes de façon inappropriée. Les cellules entrent alors dans un cycle de cassure-fusion-pontage générateur d'instabilité génomique.

7-4 Exemples de maladies monogéniques et multigéniques

Maladie monogénique:

- Due à une mutation dans un seul gène
- Généralement maladie héréditaire, maladie rare « téléthon »

Maladie multigénique:

- Due à des mutations dans plusieurs gènes
- Généralement maladie acquise

7-4-1 Exemples de maladies monogéniques

Dystrophie musculaire de Duchenne:

Mutation (translocation) dans le gène de la dystrophine: protéine des cellules musculaires indispensable à la contraction musculaire

Syndrome du cri du chat (retard mental, microencéphalie, cri particulier du bébé):

Délétion hétérozygote de l'extrémité du chromosome 5. Gène impliqué non identifié

Syndrome de Werner (vieillesse prématurée):

Mutation qui crée un codon stop prématuré dans une hélicase impliquée dans la réparation des dommages à l'ADN

7-4-2 Un exemple de maladie multigénique: le cancer

Les cellules tumorales

- Ont la propriété de se multiplier plus vite que les cellules normales
- De mourir moins que les cellules normales
- De migrer plus que les cellules normales

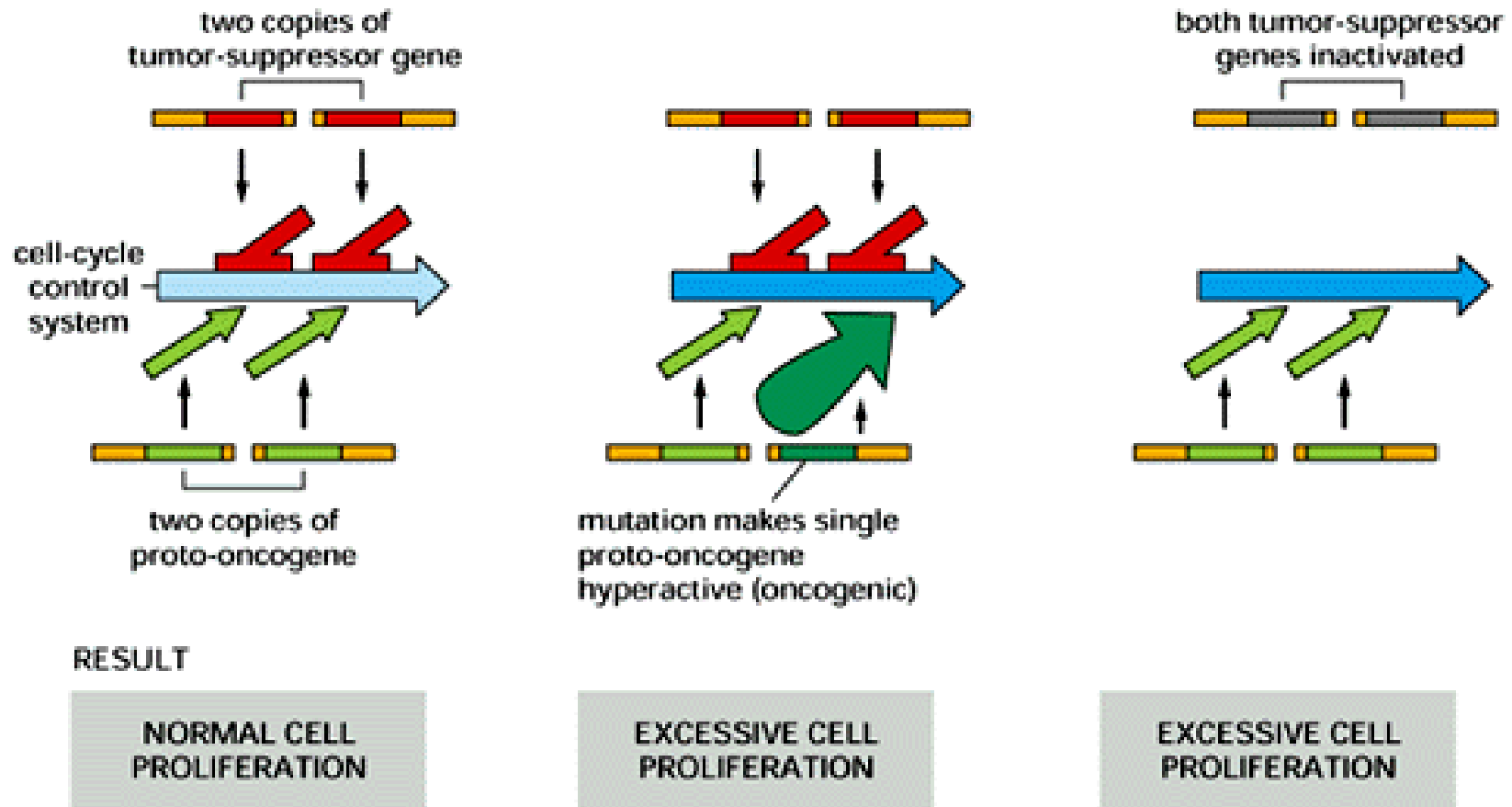
Les cellules tumorales présentent

- Des mutations dans plusieurs oncogènes et gènes suppresseurs de tumeur, probablement à l'origine de la formation des tumeurs
- Une instabilité génomique, qui est probablement cause de l'évolution de la tumeur

La plupart des mutations sont

- acquises
- mais certaines, récessives, peuvent être transmises et la mutation sur le deuxième allèle acquise (ex mutations de Rb ou BRCA1)

Oncogènes *versus* gènes suppresseurs de tumeur



La tumorigenèse: un processus multi-étapes

